云 南 植 物 研 究 5(3): 327—331, 1983
Acta Botanica Yunnanica

麝香百合茎段组织培养快速繁殖

李耿光 张兰英
(中国科学院华南植物研究所)

RAPID PROPAGATION OF LILIUM LONGIFLORUM THUNB. BY USING THE IN VITRO CULTURE OF STEM SEGMENTS

Li Kengkuang and Zhang Lanying
(South China Institute of Botany, Academia Sinica)

既可观赏又能作食用的百合，一直为组织培养工作者所重视。用百合进行过研究的器官有鳞茎鳞片[1, 3, 5, 7, 8]，叶片[6]，茎尖[1]，花药[2]花丝[4]等，均已获得完整植株。虽然Sheriden (1968) 用麝香百合 (*Lilium longiflorum* Thunb.) 的茎培养观察到胚胎发生 (Embryogenesis)，但没有报道它的植株发育[8]。

百合通常用鳞茎来繁殖，在短时期要从优良母株得到大量的鳞茎是有困难的。采用离体茎段组织培养方法能使百合快速无性繁殖。

材料与方法

实验材料是广州地区盆栽的麝香百合(*Lilium longiflorum* Thunb.)，初夏将其新抽出的嫩枝剪下，切去叶片，用自来水冲洗干净，在无菌条件下先用无水乙醇浸渍极短时间，然后放入10%漂白粉过滤液中消毒15分钟，无菌水冲洗 5 — 6 次，然后在叶片着生部位下切成一厘米长的茎切段，用镊子将茎段竖着插入予先准备好的培养基中。基本培养基为MS、SH。为了不同的目的，在基本培养基中分别加入不同的附加物如：NAA(萘乙酸)、IBA (吲哚丁酸)、KT (激动素)、BA (6-苄基嘌呤)、CM (椰乳)。培养基中的蔗糖为 3 %，琼脂为0.6%。培养基的pH在灭菌前用1N NaOH调至5.7，分装于试管或三角瓶中，在1.5磅/平方吋压力下灭菌15分钟。培养在23—27°C恒温室中，每天光照12—14小时，1000米烛光。

结果与讨论

一、愈伤组织的诱导与植株发生 茎切段接种在加10毫克/升KT+ 2 毫克/升NAA

本文于1982年12月20日收到。

的SH或MS培养基上，12—15天后大部分外植体均能从切口周围产生出淡黄绿色的愈伤组织，少数则从节间产生并首先出现有透明突起。愈伤组织结构在SH培养基中的比较致密，外表光滑；在MS培养基中的比较松散。约20天后，在SH培养基中少数愈伤组织的透明突起变成绿色具芽突起。30天后叶片便伸展开来。45天后此芽成为具有肥绿叶片及小鳞茎的苗。可将此苗分出转移至1/2SH无机盐+1毫克/升IBA的培养基中生根，余下的愈伤组织及芽突一起再转回原培养基中去，它又可能继续分化出具叶及鳞茎的苗，一个周期约40—50天，每次分出十多条苗〔图1〕。继代培养进行了七次，仍保持分化苗的能力。

上面得来的苗转移在生根培养基后，它们在生根的同时又分生出具根、鳞茎和叶片的小苗，据80年12月3日转移的无根小苗到81年1月15日统计，原12支试管内的12条无根小苗已变成95株完整的小植株。约40天的时间，平均增殖近8倍。将每个单株分开转移至原生根培养基中能继续自行分生。

从上述情况来看，在同一次的培养基中，诱导百合产生愈伤组织的同时又能分化出芽，这一现象是从带有节间的茎切段在节间位置产生的愈伤组织块上观察到的〔图2〕，最初出现的只是半透明的突起，然后才有芽分化出来。此种分化顺序与Naacy等采用麝香百合叶片组织培养时，观察到首先有透明的突起，随后才出现有组织的器官相类似〔6〕。

二、愈伤组织的分化与长成完整植株　在MS为基础，补加10毫克/升激动素和2毫克/升萘乙酸的培养基中诱导出的茎切段愈伤组织，在原培养基中一直保持不断增殖，没有芽出现〔图3〕。我们将这种愈伤组织转移到MS为基础，补加6-苄基腺嘌呤0.25，0.5，1，2毫克/升四种浓度分别与0.25毫克/升的萘乙酸及15%椰乳组合的培养基中，观察到愈伤组织以更快的速度增殖，并且不断地发生芽的分化，先出现许多绿点，随后绿点向上长出叶片。一个月后，增殖的愈伤组织及分化出的芽充满了整个培养瓶。每瓶都可获得几十株具鳞茎和绿叶的无根小苗。培养基中不同浓度的6-苄基嘌呤与生长素及椰乳协同作用结果如图4所示，愈伤组织在6-苄基嘌呤浓度较低范围（0.25和0.5毫克/升），增殖和分化效果最好，较高浓度（1和2毫克/升）不利于芽的分化甚至有所抑制。愈伤组织在分化培养基培养过程中，迅速增殖的同时又不断分化出苗的现象，可作为百合快速无性繁殖的最佳途径。目前已继代培养13次，观察到8代以前愈伤组织增殖和分化芽的能力基本保持不变，8代以后从每瓶分化出具正常叶片及小鳞茎的苗量则有所减少。

对正在增殖和分化的愈伤组织进行切片观察表明，愈伤组织块从各个方向发生分化，形成大量的芽原基。

为了促进根的发育，我们将上述SM分化培养基上来源的小苗转移到具有不同含量的MS无机盐，分别在补加不同浓度的IBA培养基中进行比较试验，结果列于下表中。小苗转移15天后开始出现根，一个月后统计初步表明：降低培养基的无机盐浓度和附加1毫克/升IAB浓度较有利于根的发生。

三、培养植株的移栽　从上述两种方式分化出的具叶片和小鳞茎的苗转移至生根培养基50天后，已成为根系发达叶片青绿茂盛的一丛苗。移栽前最好移至光线充足自然室

温下生长，一周后，从试管中取出，用清水洗去根系上的培养基，整丛或分丛移入装有混合土（7份腐殖土或耕地表层肥泥、1份煤灰、1份谷壳、1份家禽粪或豆饼粉）的花盆中，然后将花盆置于荫蔽下，保持湿润，两周后基本全活，便可放在正常栽培条件下。有个别植株原叶片可能枯萎，但鳞茎仍然青绿，不久又重新长出叶片。

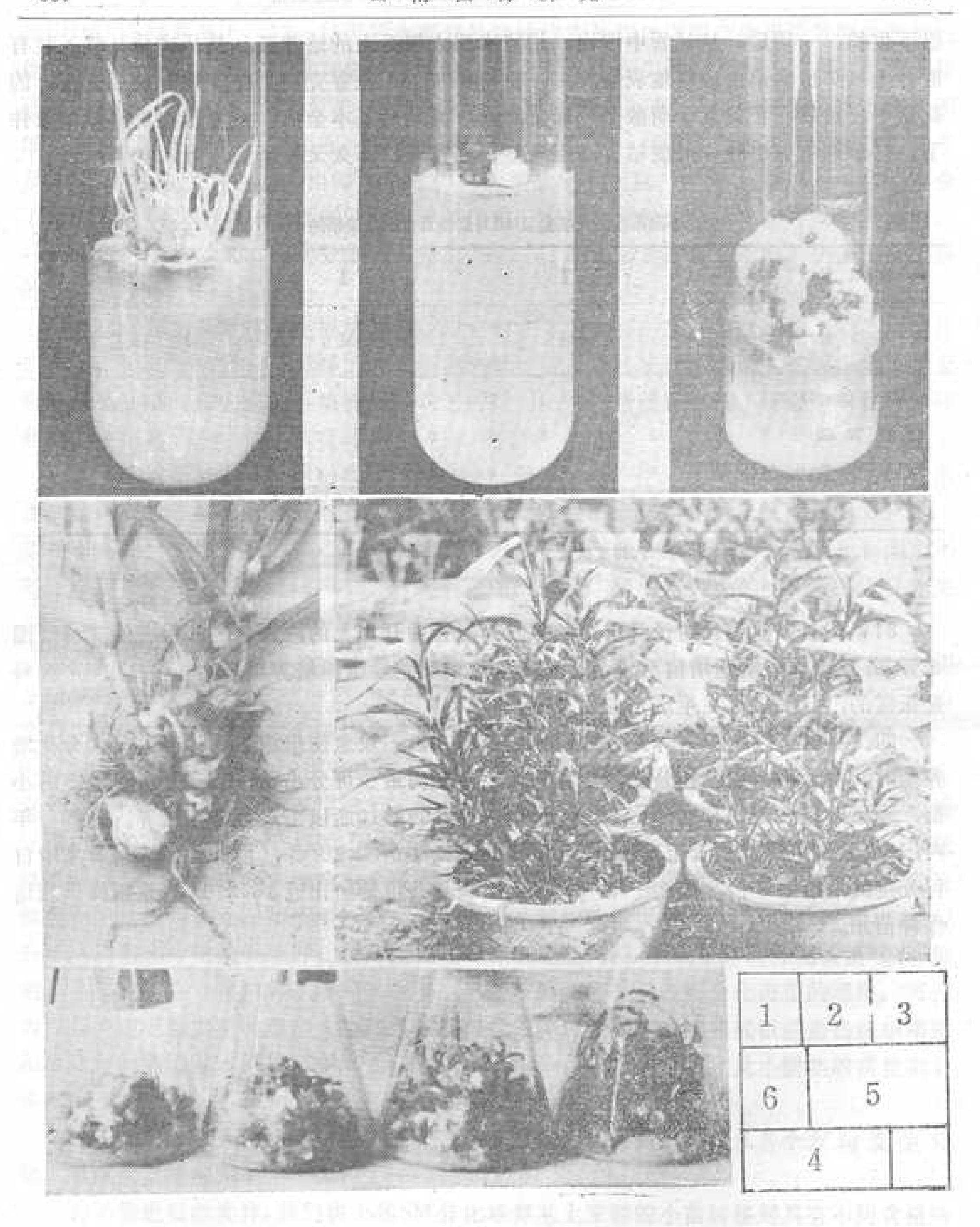
表1　　不同浓度的无机盐及IAB对麝香百合小苗发根的作用

试验组号	I		II				III				IV			
无机盐量	$\frac{1}{2}$MS		$\frac{1}{4}$MS				$\frac{1}{2}$MS				MS			
IAB浓度(mg/l)	0.5	1	0	0.5	1	2	0	0.5	1	2	0	0.5	1	2
转移苗数	6	6	6	6	6	6	5	6	5	6	6	6	6	5
生根苗数	3	4	3	3	3	0	1	4	4	0	2	0	1	1
生根百分数	50	66.7	50	50	50	0	20	66.7	80	0	33.3	0	16.7	16.7

注：1.各试验组的苗来源相同；2.每支试管一苗。

81年10月以前移栽的试管苗至82年五月，普遍开出大的，白色的，极香的花朵〔图5〕，并且每株的鳞茎增殖至多个〔图6〕，这说明茎段组织培养出来的植株的生产性将是正常的，此手段可在生产上应用。

四、百合茎段组织培养无性繁殖的增殖率　以一块愈伤组织为例，当它转入分化培养基时，由于不断增殖和分化，培养50天，每瓶内最少可分出20株具叶与小鳞茎的小苗，剩下的愈伤组织和刚分化的芽还可以切开转移10瓶以上进行继代培养。这样一年内，一块愈伤组织就能繁殖出10^6瓶，可得到无根小苗2×10^7株，再加上生根培养基中自行分生的增殖率8倍，那么一年一块愈伤组织总共可繁殖出近16×10^7完整植株供栽培作种苗用。



1.在产生愈伤组织同一培养基中分化出一丛具鳞茎和叶片的小苗。
2.茎段节间产生的愈伤组织。
3.茎切段愈伤组织在原培养基中不断增殖。
4.从3来的愈伤组织转移到MS+6苄基螺呤培养基中，在不断增殖同时分出许多芽。从左至右6-BA浓度为：2、1、0.5、0.25毫克/升。
5.移栽至花盆的苗第二年夏天开花。
6.移栽苗长出多个鳞茎。

参 考 文 献

〔1〕 上海植生所编，1978：植物组织和细胞培养。上海科技出版社，pp. 161，203。

〔2〕 谷祝平、郑国锠，1982：从百合花药诱导花粉植株的研究。植物学报，24:1，，28—31。

〔3〕 杨乃博、迟静芬，1979：用组织培养繁殖十种植物的试验。植物生理学报，5：4，369—377。

〔4〕 贾敬芬、谷祝平、郑国锠，1981：百合花丝组织培养及其细胞学观察。植物学报，23:1，17—21。

〔5〕 Dennis P. Stimart and Peter D. Ascher, 1978; Tissue Culture of Bulb scale sections for asexnal propagation of *Lilium longiflorum* Thunb. *J. Amer. Soc. Hort. Sci*, 103（2）; 182—184.

〔6〕 Nancy E. Stenbery, C. H. Chen and J. G. Ross, 1977; Regeneration of plantlets from Leaf Culture of *Lilium longiflorum* Thunb. *Proc. S. D. ACAD. Sci.*, 56; 152—158.

〔7〕 Sheila M. Robb, 1957; The culture of excised tissue from bulb scales of *Lilium speciosum* Thunb. *J. exp. Bot.*, 8; 348—352.

〔8〕 Sheridan, W. F. 1968; Tissue Culture of the moncot *Lilium*. *Planta*, 82; 189—192,